UNIVERSITE DE DIJON

FACULTE DE MEDECINE

Année 1974 - N°58

TRAITEMENT DES IMMUNISATIONS POST-TRANSFUSIONNELLES DE LA FEMME

une des modalités de prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né

THESE

présentée à la faculté de Médecine de DIJON

et soutenue publiquement le 28 octobre 1974

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Madeleine TRICOT - BRELOT

née le 15 avril 1947

à Saint-Prix-les-Arnay (Côte-d'Or)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545815_0010

UNIVERSITE DE DIJON

FACULTE DE MEDECINE

Année 1974 - N°

TRAITEMENT DES IMMUNISATIONS POST-TRANSFUSIONNELLES DE LA FEMME

une des modalités de prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né

THESE

présentée à la faculté de Médecine de DIJON
et soutenue publiquement le 28 octobre 1974
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Madeleine TRICOT - BRELOT

née le 15 avril 1947

à Saint-Prix-les-Arnay (Côte-d'Or)

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monsieur le Professeur J. JAHIER,

Vous nous avez guidée dans la compréhension de la pathologie obstétricale,

Vous nous avez fait l'honneur de présider cette thèse,

Nous vous exprimons notre profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Agrégé A. DUZER,

Vous nous avez accueillie dans votre laboratoire pour nous initier aux techniques hématologiques,

Vous avez accepté ce travail,

Nous vous adressons nos sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur F. DESTAING,

A Monsieur le Professeur Agrégé B. CAILLARD,

Nous vous remercions d'avoir accepter de juger ce travail.

A Monsieur le Docteur R. CREGUT,

Vous avez bien voulu nous faire partager votre grande expérience de la maladie hémolytique du nouveau-né,
Vous avez accepté de nous aider dans ce travail et vous avez beaucoup contribué à son élaboration,
en témoignage de notre profonde reconnaissance.

A Monsieur le Docteur M. POULAIN,

Vous nous avez inspiré ce travail et guidé dans sa réalisation,
en témoignage de notre sincère gratitude.

A Monsieur le Docteur BRICOU,

A Monsieur le Docteur A. BESLE,

A Monsieur le Docteur P. GAUTREAU,

A Monsieur le Docteur H. WACHTER,

Qui nous ont accueillie dans leur service au cours de notre internat à l'hôpital d'AUXERRE,

Nous exprimons nos plus sincères remerciements.

PERSONNEL DE LA FACULTE

M. J. B. BOUHEY : Doyen

M. A. MARIN : Assesseur

M. R. PUTELAT : Assesseur

M. J. P. DIDIER : Assesseur

M. J. GUERRIN : Assesseur

M. J. GUYOT : Professeur honoraire

M. F. BARON : Professeur honoraire

Professeurs titulaires

Anatomie et organogénèse : P. BARRY

Anatomie pathologique et carcinologie : F. CABANNE - Doyen honoraire

Biochimie : P. PADIEU

Clinique chirurgicale : H. VIARD

Clinique médicale : P. CORTET

Clinique obstétricale et gynécologique : J. JAHIER

Clinique médicale infantile : M. ALISON

Clinique neuropsychiatrique : J. BALLIVET

Hépatologie - gastro-entérologie : Cl. KLEPPING

Histologie, Embryologie cytogénétique : G. RUCART

Maladies infectieuses : F. DESTAING

Médecine légale et toxicologie : A. MARIN

Pathologie chirurgicale : C. FERRY

Pathologie médicale : R. PUTELAT

Physiologie : J. KLEPPING

Biophysique : P. GAILLARD

Sémiologie médicale : J.B. BOUHEY

Professeurs sans chaire

Anatomie pathologique : R. MICHIELS

Biochimie : J. DEDREUX

Médecine préventive et Santé publique, Hygiène : M. CARON

Parasitologie : Mme Y. ROUGET

Professeur chargé de cours à titre permanent

Bactériologie, Virologie : P. PICHAT

Maîtres de Conférences agrégés

Anatomie et organogénèse : J.M. AUTISSIER

Anesthésiologie : B. CAILLARD

Carcinologie : J. GUERRIN

Chirurgie générale : P. AUPECLE

S. BRIET

G. PIGANIOL

Gynécologie et Obstétrique : J. SALASC

J.P. FELDMAN

Hématologie et maladies du sang : A. DUZER

Médecine expérimentale, Immunologie : F. MARTIN

Médecine interne : M. GAUDET

P. LOUIS

Néphrologie : G. RIFLE

Neurochirurgie : A. THIERRY

Orthopédie, Traumatologie, Chirurgie plastique et reconstructive: P. GRAMMONT

Parasitologie : P. CAMERLYNCK

Pédiatrie et génétique médicale : J.L. NIVELON

Pharmacologie : A. ESCOUSSE

Physiologie : J.P. DIDIER

Pneumologie, phtisiologie : L. JEANNIN

Radiologie, radiodiagnostic : J.P. MABILLE

M. WEILLER

D. BINNERT

Radiologie, radiothérapie : J.Cl. HORIOT

Professeur associé

Anatomie pathologique : R. GANNEAU

Agrégés libres

Dermatologie, Vénéréologie : J.L. CHAPUIS

Ophtalmologie : P.G. MOREAU

Urologie : R. GAYET

La Faculté de Médecine de Dijon déclare que les opinions émises dans les thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

- - - - - - - - - - - -

JURY DE LA THESE

Président : Monsieur le Professeur J. JAHIER

Membres : Monsieur le Professeur F. DESTAING

Monsieur le Professeur Agrégé A. DUZER

Monsieur le Professeur Agrégé B. CAILLARD

P L A N

- Introduction ..... p 1
- Quelques rappels ..... p 5
- Prophylaxie des immunisations transfusionnelles ..... p 7
- Matériel d'étude ..... p 9
- Discussion ..... p 27
- Les gamma-globulines utilisées ..... p 28
- La voie utilisée ..... p 30
- La dose à injecter ..... p 33
- Les délais et la surveillance ..... p 41
- Les complications ..... p 45
- Mécanismes d'action ..... p 49
- Remarques du point de vue transfusionnel ..... p 51
- Conclusions ..... p 52

INTRODUCTION

Levine et Stetson ont été les premiers, en 1939, à supposer que la maladie hémolytique du nouveau-né pouvait être due à des anticorps passant de la mère au foetus. Ces anticorps ont ensuite été identifiés aux anticorps anti-Rhésus isolés par Lansteiner et Wiener en 1940.

Le premier temps de la prévention de la maladie a été la généralisation des transfusions compatibles dans le système Rhésus, qui avait été découvert par Landsteiner en 1940. On peut considérer que ce processus s'est généralisé en France de 1945 à 1950. Il a donc éliminé un grand nombre des maladies hémolytiques du nouveau-né, celles dues aux immunisations post-transfusionnelles.

Dès lors, la cause la plus fréquente des immunisations fut le passage transplacentaire des globules rouges foetaux, reconnu pour la première fois par Chown en 1954. Le risque d'immunisation est d'autant plus important que le volume sanguin foetal est plus grand et que les

cellules restent plus longtemps dans l'organisme maternel, donc sont compatibles dans le système A B O. Finn et Clarke ont eu l'idée de détruire les hématies foetales dans la circulation sanguine maternelle par l'injection de gamma-globulines anti-Rhésus (1960).

Peu à peu ont été mis au point la dose de gamma-globulines à injecter, le délai maximum à respecter entre l'accouchement et le geste thérapeutique, le mode d'injection et les critères déterminant les femmes à traiter. Ceci aboutit à l'instruction technique n°14 du 8 Février 1971, rendant obligatoire l'injection de gamma-globulines anti-Rhésus par voie intra-musculaire, dans les soixante-douze heures suivant l'accouchement par une femme Rhésus négatif d'un enfant Rhésus positif.

Il reste cependant une cause d'immunisation en dehors des grossesses, représentée par la transfusion accidentelle des femmes Rhésus négatif par du sang Rhésus positif. Le pourcentage de ces immunisations, déterminé par GERMANN en 1970, en reprennant les observations recueillies en vingt ans à la maternité de Montpellier, reconnait:

78% des immunisations d'origine foeto-maternelle,
16% d'origine transfusionnelle,
6% d'origine inconnue.

Parmi ces 16% d'immunisations post-transfusionnelles, 74% touchent le système Rhésus et en particulier l'antigène D.

Les aspects cliniques ne diffèrent pas de ceux observés lors des immunisations foeto-maternelles, mais les formes graves sont plus fréquentes. On peut reproduire, sur un tableau, les constatations de GERMANN :

	Im. foeto-mater.	Im. post-transf.
Mort in utéro	12%	26%
Anasarque	2%	4%
Ictère grave	20%	31%

Les conclusions de ce travail mettaient en évidence quatre points particuliers :

1) la possibilité d'accidents dès la première grossesse,

2) la fréquence moindre des immunisations post-transfusionnelles,

3) la sévèrité de l'atteinte,

4) l'impossibilité du traitement préventif par gamma-globulines anti-Rhésus.

C'est ce dernier point qui est discuté dans ce travail.

Si le traitement préventif ne se situe plus dans le post-partum, il peut être envisagé dès la reconnaissance de la transfusion immunisante, quand elle intérèsse le système Rhésus et exclusivement l'antigène D.

Il est possible d'éviter, dans un grand nombre de cas, l'immunisation post-transfusionnelle par l'antigène D en traitant rapidement et à dose suffisante, les femmes jeunes et non encore immunisées, ayant reçu, même en quantité importante, du sang Rhésus positif, en leur injectant des gamma-globulines anti-Rhésus. La quantité de gamma-globulines à injecter est un problème difficile à résoudre. Il a donné lieu à de nombreux travaux expérimentaux, sutout anglo-saxons, dont le plus intéressant est celui de POLLACK.

A travers les trois cas présentés ici, ajoutés aux observations publiées par différents auteurs, on cherchera à définir :

-une voie d'introduction préférentielle,

-une dose suffisante de gamma-globulines à injecter en

fonction de la quantité de sang transfusée,

- les délais à respecter dans la mise en route du traitement,

- les modalités de surveillance de cette thérapeutique.

On évoquera en outre, rapidement, les complications rapportées et les mécanismes d'action suggérés par certains chercheurs.

Avant d'aborder ces modalités thérapeutiques destinées à éviter les immunisations post-transfusionnelles, il est nécéssaire d'envisager la prophylaxie qui permettra d'éviter les erreurs de transfusion et les difficultés d'un contrôle pré-transfusionnel.

QUELQUES RAPPELS.

La maladie hémolytique du nouveau-né est due au passage transplacentaire d'anticorps de la mère (pour ce qui nous intéresse ici, anticorps anti-Rhésus ou plus exactement anti-D) qui détruisent, par hémolyse, les globules rouges du foetus (Rhésus positif).

Les anticorps maternels naissent d'une stimulation antigènique par introduction de globules rouges Rhésus positif chez une mère Rhésus négatif, lors de transfusions foeto-maternelle (en général minime) ou thérapeutique (souvent massive). Ce sont des anticorps immuns; ils sont décelables de façon durable chez la mère. Leur taux décroit lentement au fil des années. Il augmente beaucoup en présence d'une nouvelle stimulation (réponse secondaire). Il s'agit d'une immunisation active.

Les gamma-globulines utilisées pour le traitement préventif sont des anticorps immuns provenant de donneurs activement immunisés. Introduits dans la circulation, ils se fixent sur les globules rouges Rhésus positif pour accélérer leur élimination. Les anticorps restant en circulation ont une demi-vie de 20 jours et disparaissent selon une courbe exponentielle. Il s'agit d'une immunisation passive.

Les anticorps présents dans le sérum, qu'ils soient actifs ou passifs, se détectent notemment par la technique du Coombs indirect. Le sérum à tester est mis en présence d'hématies Rhésus positif. S'il existe des anticorps dans le sérum, ils se fixent sur l'antigène porté par l'hématie qui est alors sensibilisée. La mise en évidence de cette sensibilisation se fait grâce à un sérum antiglobuline qui provoque l'agglutination des hématies sensibilisées.

Le test de Coombs direct recherche la sensibilisation in vivo des hématies. Le sérum antiglobuline révèle cette sensibilisation en entraînant une agglutination des globules rouges.

En conclusion :

- le test de Coombs indirect recherche les anticorps actifs ou passifs présents dans la circulation maternelle,
- le test de Coombs direct met en évidence la sensibilisation des hématies de l'enfant et dans le cas de transfusion de globules Rhésus positif à une femme Rhésus négatif, la présence en nombre suffisant, de globules Rhésus positif ayant fixé les gamma-globulines injectées, dans le sang de la femme.

LA PROPHYLAXIE DES IMMUNISATIONS TRANSFUSIONNELLES

I- RAPPEL DE LA DETERMINATION DU RHESUS STANDARD (8).

La détermination du Rhésus standard se fait par deux méthodes différentes : l'une sur plaque, l'autre en microtubes. De toute façon, la réaction s'effectue en double, par deux personnes différentes, utilisant les deux techniques et avec deux sérum-tests différents.

Le principe est l'agglutination des globules rouges Rhésus positif par un sérum contenant un anti-D.

1° Réaction en microtubes.

Elle met en présence une goutte de sérum anti-D et une goutte de globules en suspension à 2ù dans leur propre sérum, dans un microtube. La lecture de l'agglutination se fait au microscope après étalement sur lame, après un séjour de deux heures à l'étuve à 37°. L'examen est accompagné de témoins positif et négatifs.

2° Réaction sur plaque.

On utilise deux gouttes de sérum-test et une goutte d'hématies en suspension de 40% dans leur sérum sur une plaque chauffante, chaude à 40°. Après agitation, l'agglutination apparait en quelques minutes. La réaction est accompagnée de témoins négatifs et positif.

II- LES DIFFICULTES DU GROUPAGE RHESUS.

Elles sont envisagées succintement.

1° Le témoin albumine (les globules en suspension dans l'albumine) est positif. Ceci interdit d'interprèter le résultat des réactions précédentes et témoigne de la sensibilisation des hématies par

des anticorps, en particulier dans les anémies hémolytiques.

2° Le phénomène des rouleaux est dû à la présence de protéines en quantité importante, surtout de gamma-globulines. Il se traduit par une sédimentation qui peut être confondue avec une agglutination. Il faut alors laver les hématies.

3° En cas de polyagglutinabilité, il faut refaire soigneusement la réaction avec tous les témoins nécéssaires.

4° Les examens effectués à température du laboratoire donnent de faux résultats négatifs.

5° En cas de transfusion de sujets Rhésus négatif par du sang Rhésus positif, il est parfois difficile de déterminer le Rhésus. Il existe une agglutination due aux globules transfusés.

L'énoncé de ces difficultés explique pourquoi la technique de détermination du Rhésus est restée un problème confié à des techniciens entraînés et qu'il n'y a pas encore de contrôle prè-transfusionnel obligatoire dans le système Rhésus.

III- LES PRINCIPALES CAUSES D'ACCIDENTS TRANSFUSIONNELS.

La circulaire n°84 du 15 Décembre 1965 du ministère de la Santé Publique traitant de la prévention des accidents transfusionnels rappelle :

"Ces accidents relèvent parfois de faute de technique mais plus souvent d'erreurs d'étiquetage de flacons et tubes contenant les prélèvements, ou d'une transcription erronée des résultats des groupages, ou encore d'une confusion de flacons par le transfuseur."

MATERIEL D'ETUDE

- Une observation personnelle,
- Deux observations transmises par le Docteur Reviron,
- Observations publiées par Hughes-Jones et Mollison (1968)
  Woodrow et Bowley (1968)
  De Veber (1968)
  Keith (1970)
  Eklund et Nevanlinna (1971)
  Beard et Pemberton (1971)
  Bowman et Mohn (1972)
  Jouvenceaux (1973)

OBSERVATION PERSONNELLE (cas n° 1)

Madame P., âgée de 25 ans, de groupe AB négatif, primigeste et primipare, accouche le 25 Septembre 1971 d'un enfant A positif. Les recherches d'agglutinines effectuées au cours de la grossesse ont été négatives. Elle reçoit le 26-9, 250 µg de gamma-globulines anti-Rhésus par voie intra-musculaire.

Le 28-9, entre 17 et 18 heures, elle reçoit 150 ml de sang total AB positif, soit 60 ml de globules rouges.

Le 28-9, à 23 heures, on pratique une première injection de 250 µg de gamma-globulines anti-Rhésus intra-veineuse suivie de trois autres injections intra-veineuses:

le 29-9 à 12 heures,

le 29-9 à 19 heures,

le 30-9 à 12 heures.

Elle a donc reçu en tout, 1 000 µg de gamma-globulines anti-Rhésus dans les 43 heures suivant la transfusion.

Les injections ont été bien supportées.

Avant chaque injection on a prélevé un échantillon de sang pour la recherche d'anticorps.

Après la troisième injection sont apparus des anticorps anti-D dans la circulation, décelables par test de Coombs indirect et hématies traitées par enzyme (papaïne), retrouvés 20 heures après la dernière injection.

Les recherches effectuées 41 jours et 6 mois après la trans-

fusion sont négatives. Elle accouche le 26-8-1973 d'un enfant B négatif; les trois examens pratiqués lors de la grossesse n'ont pas montré d'anticorps anti-Rhésus. (Les dosages d'anticorps effectués depuis quelques années systématiquement au technicon, ont montré qu'il n'existait pas d'augmentation d'un taux d'anticorps anti-D déjà existant, lors de la grossesse d'un enfant Rhésus négatif.)

Les différents prélèvements ont été adressés au service de la maladie hémolytique du nouveau-né au Centre de Transfusion de Paris (Docteur CREGUT). Les mesures effectuées au technicon ont permis d'évaluer à 500 µg la quantité d'anticorps fixée sur les hématies et 500 µg les anticorps libres circulants, après la cinquième injection. Ceci correspondrait à la saturation de presque 20% des sites antigèniques D.

OBSERVATION DE L'HOPITAL SAINT-LOUIS (cas n° 2)

(observation communiquée par le Docteur Reviron, directeur du centre de secteur de transfusion et hémobiologiste de Saint-Louis.)

Madame G., âgée de 24 ans, de groupe O négatif, est opérée le 23 Novembre 1972 pour un goître. Elle n'a jamais reçu de transfusion, n'a pas présenté de grossesse auparavant.

Elle reçoit par erreur, en salle d'opération, à 10 heures, un flacon de 360 ml de sang total de groupe O positif, soit 140 ml de globules rouges. Il n'y a eu aucun incident lors de la transfusion.

On pratique une première injection, à 16 heures, de 250 µg de gamma-globulines par voie intra-veineuse, puis une injection du même type toutes les six heures pendant 30 heures, soit 6 injections de 250 µg donc 1 500 µg.

Les recherches d'anticorps ont été effectuées :

- avant la première injection, test de Coombs indirect négatif;
- 1/2 heure après la seconde, test de Coombs indirect positif;
- 1/2 heure après la troisième, test de Coombs indirect positif;
- 1/2 heure après la quatrième, test de Coombs indirect positif;
- avant la cinquième, résultat négatif;
- 3 heures après la cinquième résultat négatif;
- 3 heures après la sixième, résultat négatif.

Le test de Coombs direct s'est positivé, en utilisant un sérum anti-globuline anti-gamma G, après la troisième injection; il a été retrouvé positif à chaque prélèvement suivant.

Une recherche d'anticorps effectuée un an et demi après l'intervention a été négative.

OBSERVATION DE L'HOPITAL SAINT-LOUIS (cas n° 3)

(observation communiquée par le Docteur Reviron, directeur du centre de secteur de transfusion et hémobiologiste de Saint-Louis.)

Madame M., âgée de 25 ans, de groupe O négatif, est hospitalisée pour une intervention sur une scoliose lombaire importante.
Le 19 Septembre 1972, les recherches d'anticorps sont négatives.

Le 22-9-1972, le matin de l'intervention, elle reçoit 50 ml de sang total de groupe O positif (quantité indiquée par le service), soit 20 ml de globules rouges.

Le 22-9 à 11 heures, on décide d'injecter des gamma-globulines anti-Rhésus, 250 µg par voie intra-veineuse. On répète les injections à 23 heures, puis le lendemain à 11 heures, soit 750 µg au total. La tolérance clinique aux injections est parfaite.

Les recherches d'agglutinines sont effectuées une heure après chaque injection. Le test de Coombs indirect négatif après la première injection, se positive moins de 16 heures après la transfusion, avec un titre d'anti-D au 1/16. Il restera positif après la troisième injection à un titre de 1/16.

Le 4-10, 10 jours après la transfusion, l'anticorps est retrouvé en broméline. Trois mois plus tard, un faible anti-D est identifié mais non dosable.

Il est difficile d'interprèter l'existence de cet anticorps anti-D dont le taux a diminué dans les tois premiers mois. On peut penser en effet, étant donné la dose importante de 30 µg de gamma-globulines

par millilitre de globules rouges injectée, qu'il persitait encore, trois mois après leur injection, des anticorps passifs dans le sérum. La décroissance des anticorps sériques injectés étant exponentielle, le temps de demi-vie de 20 jours, il est logique de retrouver quatre-vingts jours plus tard, des anticorps aisément décelables en broméline.

On peut considèrer, sans en avoir la certitude, que l'anticorps retrouvé trois mois après est un anticorps passif et que la malade n'est pas immunisée.

SCHEMATISATION DES MODALITES THERAPEUTIQUES

///// *anticorps libres dans le sérum*

	Quantité de sang en ml	*Quantité d'hématies en ml*	*Quantité d'anti-D totale en µg*	*Quantité d'anti-D par ml de G R*	*Résultats*
cas n° 1	150 ml	60 ml	1 000 µg I.V.	13,3 µg/ml	pas d'immun.
cas n° 2	350 ml	140 ml	1 500 µg I.V.	8,5 µg/ml	pas d'immun.
cas n° 3	50 ml	20 ml	750 µg I.V.	30 µg/ml	pas d'immun.

OBSERVATION RAPPORTEE PAR HUGHES-JONES ET MOLLISON (1968) (18)

La malade, âgée de 21 ans, est hospitalisée pour hémorragie après un avortement. Elle reçoit deux flacons de sang O positif, soit environ 400 ml de globules rouges. Elle est de groupe O négatif.

Quarante-huit heures plus tard, on lui injecte 1 000 µg de gamma-globulines anti-D par voie intra-musculaire.

Deux jours après l'injection, les tests de Coombs direct et indirect sont retrouvés positifs.

Un anti-D immun sera identifié dans le sérum 24 et 107 jours après la transfusion.

On doit noter le délai de 48 heures entre la transfusion et l'injection. Les auteurs ont calculés que 64% de l'anticorps étaient liés à la surface cellulaire et occupaient 5% des sites antigèniques D. Ils concluent du développement très rapide de l'immunisation que les anticorps injectés à trop faible dose ont une action stimulante sur l'immusation.

OBSERVATIONS PUBLIEES PAR WOODROW ET BOWLEY (1968) (37)

Cas n°1 :

Une jeune primipare de génotype ccddEe (rh",r), a reçu une transfusion de 200 ml de sang Rhésus positif CCDee (R1,R1).

Quarante-huit heures plus tard, on se propose de lui transfuser du plasma contenant un anti-D incomplet titré à 1/16 en albumine. Alors que 370 ml de ce plasma ont déjà été passés, on est obligé d'arrêter la perfusion à cause de frissons très intenses.

Un anticorps anti-D circulant est retrouvé pendant cinq jours après l'injection.

Trois mois et neuf mois après cet épisode, aucun anticorps n'est décelé dans son sérum.

Cas n°2 :

Une jeune femme, de groupe O Rhésus négatif, a reçu 300 ml de sang Rhésus positif ccDEE (R2,R2).

On décide de la traiter grâce à un plasma contenant un anti-D titré au 1/512° en albumine. On injecte le jour même 13 ml de plasma par voie intra-veineuse, puis 14 ml le lendemain. Il n'y a eu aucune réaction aux injections.

Un anticorps immun était retrouvé dans son sérum deux mois après la transfusion.

OBSERVATIONS PUBLIEES PAR DE VEBER (1968) (10)

Cas n°1 :

Une jeune femme de 23 ans a reçu pour une hémorragie abondante d'un placenta prévia, 1 000 ml de sang O positif, alors que son groupe sanguin est O négatif. Ceci correspond à une transfusion de 400 ml de globules rouges.

Quatre jours plus tard, elle est traitée par 250 ml d'un plasma contenant un anti-D au titre de 1/512 en Coombs indirect. Le lendemain on poursuit par 980 ml de ce même plasma, perfusé en 18 heures, malgré fièvre et vomissements dès la 12° heure de transfusion. Une dose finale de 175 ml a été injectée le lendemain sans incident.

Des anticorps circulants ont été identifiés pendant deux mois, mais 14 mois après il n'y avait plus d'anticorps anti-Rhésus dans son sérum.

Cas n°2 :

Une jeune femme de 23 ans reçoit, lors d'une césarienne, un flacon de sang A positif alors que son groupe est A négatif. On considère qu'il existe 160 ml de globules rouges en circulation.

Le lendemain, une perfusion de plasma contenant un anticorps anti-D est mise en place mais doit être interrompue pour fièvre et état de choc, au bout de 75 ml. Le titre de l'anticorps perfusé est de 1/2048 et 1/4096.

Un mois après, on retouvait de faibles traces d'anticorps dans le sérum en Coombs indirect, mais neuf mois plus tard aucun anticorps n'était mis en évidence.

OBSERVATION PUBLIEE PAR KEITH (1970) (23)

Une jeune fille de 16 ans, de groupe O négatif D^{u-}, accouche le 14 Avril 1969 d'un enfant B Rhésus positif. Il n'y a pas d'anticorps anti-Rh dans son sérum. Elle saigne beaucoup lors de la délivrance et son hématocrite était à 24%. Elle reçoit 1 000 ml de sang de groupe O Rhésus positif.

Elle reçoit pour traitement 1 500 µg de gamma-globulines (5 ml) toutes les 12 heures pendant 8 jours, par voie intra-musculaire. La dose totale fut de 17 700 µg. Il n'y a eu aucun incident.

Les anticorps passifs sont retrouvés pendant un mois après le début du traitement.

Deux, trois, cinq et huit mois après la transfusion on ne retrouvait pas d'anticorps dans son sérum.

OBSERVATIONS PUBLIEES PAR EKLUND ET NEVANLINNA (1971) (12)

Cas n°1 :

Il s'agit d'une jeune femme de 22 ans, de groupe A négatif, qui a reçu 400 ml de sang total soit 160 ml de globules rouges A positif.

Elle a été traitée par 630 ml de plasma, injectés par voie intra-veineuse, cinq heures après la transfusion et pendant 31 heures. A partir de 180 ml, soit deux heures, elle a présenté de la fièvre avec température à 38°6 et des frissons. Après un arrêt de 14 heures, la perfusion de plasma est reprise à un rythme de 30 ml/h sans réaction. Elle a reçu 8 200 µg d'anti-D.

Les recherches d'anticorps ont été négatives dans les mois qui ont suivi cette transfusion.

Cas n°2 :

Une jeune femme de 18 ans, de groupe A négatif, a reçu 800 ml de sang total soit 320 ml de globules rouges A positif.

Neuf heures après, elle est traitée par voie intra-musculaire avec 2 500 µg d'anti-D. Vingt-quatre heures plus tard, on pratique une nouvelle injection de 2 500 µg.

Les recherches d'anticorps sont négatives 19 mois après cette transfusion.

Cas n°3 :

Une jeune femme de 21 ans, de groupe A négatif, a reçu 400 ml de sang total, soit 160 ml de globules rouges A positif.

Elle est traitée, cette fois encore, par voie intra-musculaire. On a pratiqué une première injection de 1 500 µg d'anti-D douze heures après la transfusion et la même injection douze heures plus tard.

Un an après, les recherches d'anticorps étaient négatives.

Ces auteurs remarquent qu'il n'y a pas de danger à utiliser un excès d'anticorps et de même pas de risque de blocage rénal, même si une grande quantité de cellules est détruite rapidement.

OBSERVATION PUBLIEE PAR BEARD ET PEMBERTON (1971) (3)

Une jeune femme de 33 ans, de groupe O négatif, a reçu deux unités de sang Rhésus positif, soit environ 400 ml de globules rouges, puis cinq unités de sang Rhésus négatif pour hémorragie par rupture d'une grossesse utérine.

Quarante heures après la transfusion, la malade est traitée par une injection intra-musculaire de 860 µg d'anti-D, puis à 24 heures d'intervalle 1 200, 1 400, 1 400, 2 000 µg soit au total 6 860 µg.

En repren ant l'étude de l'échantillon de sang prélevé avant toute transfusion, on a pu mettre en évidence l'existence d'un anticorps anti-Rhésus qui n'avait pas été retrouvé lors d'un premier examen. On a donc arrêté immédiatement toute thérapeutique par les gamma-globulines, inefficaces pour une réponse immunologique secondaire.

Les recherches effectuées régulièrement sur le sérum de cette femme ont montré, outre l'existence d'un anticorps anti-D dont le taux baissera progressivement, la positivation du test de Coombs direct six mois après l'épisode hémorragique. L'anticorps ainsi élué était un auto-anticorps chaud de type gamma G, sans spécificité détectable. Trois mois plus tard, le test de Coombs direct était encore positif mais on ne pouvait plus éluer l'anticorps.

OBSERVATION PUBLIEE PAR BOWMAN ET MOHN (1972) (6)

Une jeune femme de 23 ans a reçu pour une hémorragie du post-partum, 450 ml de sang total A positif, alors qu'elle est de groupe A négatif. Après le calcul de l'hématocrite du donneur, cette transfusion correspond à 193 ml de globules rouges.

Dix heures après la transfusion, on a pratiqué une seule injection intra-musculaire de 8 400 µg d'anti-D (30 ml). Il n'y a pas eu de réaction clinique à cette injection.

Le test de Coombs direct s'est positivé quarante-huit heures après le début du traitement et pour une durée de trois jours. Les anticorps circulants ont été retrouvés dès le deuxième jour et pendant 125 jours en solution saline et en milieu séro-albumineux. Avec le test de Coombs indirect on a observé un maximum au dixième jour.

Un an plus tard, aucun anticorps n'a été retrouvé dans le sérum.

Les auteurs préconisent lorsque plus de deux flacons sont passés, de pratiquer une exsanguino-transfusion partielle, pour réduire le nombre de cellules positives circulantes, avant l'injection de la dose appropriée de gamma-globulines.

OBSERVATIONS PUBLIEES PAR JOUVENCEAUX (1973) (20)

Il s'agit de personnes transfusées, par erreur, avec du sang Rhésus positif alors qu'elles sont de groupe négatif.

Trois ont été traitées par voie intra-musculaire et trois par voie intra-veineuse.

cas n°	*volume sanguin transfusé*	*mode d'injection*	*quantité d'anti-D injectée*	*résultat*
1	259 ml	I.M.	750 µg	nég. 4 mois
2	250 ml	I.M.	750 µg	pos. 4 mois
3	500 ml	I.M.	1 250 µg	nég. 9 mois
4	125 ml	I.V.	255 µg	nég. 11 mois
5	500 ml	I.V.	1 000 µg	nég. 12 mois
6	900 ml	I.V.	3 000 µg	nég. 5 mois

Nom de l'auteur	N°	Volume transfusé en ml de GR	Mode d'injection	Quantité injectée en µg	Dose d'anti-D en µg/ml de GR	Résultat	Délais du traitement	Elimination des GR
Observations originales n°1	I	60 ml	I.V.	1 250 µg	13,3 µg/ml	nég. 2 ans	5 h	
n°2	II	140 ml	I.V.	1 500 µg	8,5 µg/ml	nég.18 mois	6 h	+ de 36 h
n°3	III	20 ml	I.V.	750 µg	30 µg/ml	nég. 3 mois ?	3 h	16 h
Hughes-Jones	IV	400 ml	I.M.	1 000 µg	2,5 µg/ml	pos. 3 mois	48 h	+ de 12 j
Woodrow n°1	V	80 ml	I.V.	370 ml plasma		nég. 9 mois	48 h	- de 7 j
Bowley n°2	VI	120 ml	I.V.	27 ml plasma		pos. 2 mois	1 à 2 j	+ de 11 j
De Veber n°1	VII	400 ml	I.V.	1 400 ml plasma		nég.14 mois	96 h	
n°2	VIII	160 ml	I.V.	75 ml plasma		nég. 9 mois	24 h	
Keith	IX	400 ml	I.M.	17 700 µg	44 µg/ml	nég. 8 mois		6 à 7 j
Eklund n°1	X	160 ml	I.V.	8 200 µg	51 µg/ml	nég.22 mois	5 h	1 à 2 j
n°2	XI	320 ml	I.M.	5 000 µg	16 µg/ml	nég.19 mois	9 h	6 à 7 j
n°3	XII	160 ml	I.M.	3 900 µg	25 µg/ml	nég.12 mois	12 h	
Beard Pemberton	XIII	400 ml	I.M.	6 860 µg	17 µg/ml	pos.rép sec	40 h	
Bowman Chown	XIV	193 ml	I.M.	8 400 µg	43 µg/ml	nég.12 mois	10 h	
Jouvenceaux n°1	XV	100 ml	I.M.	750 µg	7,5 µg/ml	nég. 4 mois	- de 24 h	+ de 3 j
n°2	XVI	100 ml	I.M.	750 µg	7,5 µg/ml	pos. 4 mois	- de 24 h	+ de 3 j
n°3	XVII	200 ml	I.M.	1 200 µg	6,25 µg/ml	nég. 9 mois	- de 24 h	5 j
n°4	XVIII	50 ml	I.V.	255 µg	5 µg/ml	nég.11 mois	- de 24 h	4 j
n°5	XIX	200 ml	I.V.	1 000 µg	5 µg/ml	nég.12 mois	- de 24 h	?
n°6	XX	360 ml	I.V.	3 000 µg	8 µg/ml	nég. 5 mois	- de 24 h	5 j

D I S C U S S I O N

- Les gamma-globulines utilisées.

- Les voies d'introduction.

- La dose à injecter.

- Les délais et la surveillance.

LES GAMMA-GLOBULINES UTILISEES.

Pour neutraliser les globules rouges Rhésus positif dans la circulation, on a d'abord utilisé du plasma contenant un anti-D, transfusé directement du donneur au receveur. Puis on a isolé de ce plasma les gamma-globulines qu'on a injecté par voie intra-musculaire puis récemment par voie intra-veineuse.

En observant la chronologie des observations publiées, on remarque que les cas les plus anciens (1968) ont été traités par du plasma recueilli chez un ou plusieurs donneurs, rapidement disponibles, et possèdant un taux de gamma-globulines suffisant : de 1/16 à 1/512 en albumine, de 1/256 à 1/4096 en Coombs indirect.

Le plasma est réinjecté par voie intra-veineuse, sous perfusion lente et avec surveillance clinique rigoureuse en raison de la fréquence des incidents parfois graves. Ils se manifestent par des signes de choc transfusionnel : fièvre et surtout frissons, pâleur pouvant aller jusqu'à l'état de choc. Le plus souvent la perfusion est arrêtée avant que des signes graves n'apparaissent.

Parmi les cinq malades traitées de cette façon, quatre ont manifesté des signes d'intolérance imposant l'arrêt de la perfusion. On peut noter le seul cas où la perfusion a été bien supportée (cas n°VI) la quantité injectée était la plus faible (27 ml de plasma) et le résultat a été un échec.

Un premier progrès a été réalisé par l'utilisation de gamma-globulines standardisées, préparées par le Centre de Transfusion de Lyon par fractionnement selon la technique de Cohn, à partir d'un pool de

plasma contenant des gamma-globulines provenant de très nombreux donneurs (Jouvenceaux 22). La fabrication de gamma-globulines à partir d'un pool composé du plasma d'un grand nombre de donneurs augmente l'index d'hétérogénéïté, majore l'avidité des anticorps pour l'antigène D. L'effet de l'hétérogénéïté est d'augmenter le pourcentage d'anticorps lié aux cellules, en particulier à faible concentration.

Hughes-Jones a pu prouvé que, avec des pools obtenus à partir de dix donneurs au moins, les constantes d'équilibre sont similaires d'un pool à l'autre (Jouvenceaux 21). L'action obtenue est donc comparable d'un lot à l'autre.

Des gamma-globulines préparées de façon analogue ont été utilisées lors des traitements intra-musculaires.

Un nouveau pas a été franchi depuis l'utilisation de gamma-globulines injectables par voie intra-veineuse. Elles sont préparées à partir de pool de plasma provenant de nombreux donneurs, par fractionnement selon la technique de Cohn puis une hydrolyse acide ménagée entraîne la disparition du pouvoir anti-complémentaire permettant ainsi l'injection intra-veineuse. (Jouvenceaux 22)

Ces gamma-globulines étaient lyophylisées et présentées en doses de 250 µg par le Centre de Transfusion de Lyon. C'est sous cette forme qu'elles ont été utilisées dans les trois premières observations. Actuellement les doses préparées sont de 85 µg d'anti-D par ampoule.

TOLERANCE

plasma intra-veineux	4	incidents pour	5	observations
gamma-globulines IM	0	incident pour	9	observations
gamma-globulines IV	0	incident pour	6	observations

LA VOIE UTILISEE.

La première voie utilisée (5 observations) fut la voie intra-veineuse avec la transfusion de plasma sans préparation du donneur au receveur. Ces transfusions étaient mal tolérées et donnaient lieu à des incidents et accidents qui sont exposés précédemment.

La voie intra-musculaire a été utilisée dans 9 observations. Les quantités utilisées ont varié de 17 700 µg à 750 µg, en plusieurs injections espacées de façon variable de quelques heures à quelques jours. Les malades n'ont présenté aucun signe d'intolérance.

La voie intra-veineuse a été permise grâce à la disparition du pouvoir anti-complémentaire des gamma-globulines. Les doses rapportées dans les six observations de 3 000 µg à 250 µg sont réparties en plusieurs injections séparées de quelques heures. Il n'y a pas eu d'incident clinique.

De nombreux travaux ont comparé l'efficacité des voies intra-veineuse et intra-musculaire en mesurant la clearance des globules rouges Rhésus positif et en évaluant la présence d'anticorps libres dans le sérum.

Lors de l'étude de la survie des globules rouges foetaux dans l'organisme maternel après injection intra-musculaire de gamma-globulines anti-Rhésus, Huchet, Cregut, Pinon (16) notent deux phases à cette élimination. Une phase lente, ou temps de latence, est d'autant plus longue que le volume globulaire foetal est plus important. Une phase rapide est variable, elle aussi, avec le volume globulaire. Le temps total est donc lui aussi fonction de ce volume et varie de 35 heures

à 130 heures pour des volumes de 2 à 85 ml.

L'utilisation de la voie intra-veineuse pour l'injection des gamma-globulines anti-Rhésus a révélé qu'il n'existait pas de temps de latence. L'élimination des globules rouges foetaux commence dès la première heure après l'injection. La phase rapide a une durée variable selon les volumes globulaires à éliminer mais pour des volumes allant de 10 à 175 ml le temps total n'a jamais dépassé 36 heures.

Börner et Deicher (4) ont obtenus des résultats analogues en utilisant des globules rouges foetaux marqués au Cr51. Ils ont montré que l'élimination globulaire commence dès la première heure après l'injection intra-veineuse de gamma-globulines alors qu'elle ne débute que 7 à 14 heures après l'injection intra-musculaire.

La concentration d'anticorps circulants a été étudiée par Huchet, Cregut, Pinon (16) et par Jouvenceaux (22) à Lyon rapportant des travaux de Martin du Pan.

Les premiers ont mesuré la concentration des anticorps 20 heures après une injection intra-musculaire de 300µg d'anticorps et de 1 à 15 heures après une injection intra-veineuse de 300 µg d'anticorps. Dans le premier cas, on retrouve 30 µg/l dans le sang et dans le second 60 µg/l, donc une variation du simple au double selon le mode d'introduction.

Les seconds ont montré qu'après une injection intra-veineuse les gamma-globulines se répartissent dans les compartiments intra et extra-vasculaire et la concentration retrouvée dans le sang est d'environ 40 à 50% de la dose injectée. Une injection intra-musculaire entraîne une concentration sanguine de 10 à 20% de la dose injectée. Or, l'action des immunoglobulines se situe dans la circulation, la voie intra-veineuse assure plus rapidement des doses plus importantes.

Jouvenceaux a montré (21) qu'après le cinquième jour suivant une injection de gamma-globulines intra-musculaire, la concentration

plasmatique atteint 35 à 40% de la dose injectée et devient similaire à celle suivant une injection intra-veineuse de gamma-globulines.

Il est indiscutable que la voie intra-veineuse permet une accélération de l'élimination des globules rouges, supprimant la phase de latence et diminuant la durée de la phase rapide. Pour une même quantité de gamma-globulines injectée, la quantité d'anticorps passifs circulants est très augmentée lors de l'introduction intra-veineuse dans les premiers jours suivant l'injection (20).

L A D O S E A I N J E C T E R .

Avant d'envisager de définir la dose de gamma-globulines à injecter pour prévenir l'immunisation anti-Rhésus, il faut souligner que sans traitement, des volumes globulaires importants ou des injections répètées ne détermineront jamais d'anticorps anti-Rhésus dans 20 à 30% des cas (7).

De même, il suffit d'une dose de 0,03 ml de globules rouges (et peut-être 0,01 ml) pour provoquer chez certains sujets une immunisation anti-Rhésus. (Mollison 25)

On doit remarquer que, parmi les vingts observations rapportées ici, il n'existe que trois sujets immunisés (en ne tenant pas compte de l'observation n° XIII considèrée comme une réponse secondaire). Le pourcentage de sujets immunisés est de 15% (3 pour 19). On est donc loin des 70 à 80% des personnes qui auraient présenté des anticorps anti-Rhésus si aucun traitement n'avait été institué. Ceci pourrait démontrer l'intérêt du traitement de ces sujets mais c'est un fait généralement admis depuis quelques années.

DOSE A INJECTER ET VOLUME GLOBULAIRE

La détermination de la dose de gamma-globulines à injecter après transfusion d'hématies Rhésus positif à des sujets Rhésus négatif, est un problème qui a suscité ces dernières années, des travaux expérimentaux, en particulier ceux de POLLACK et son équipe. Jusqu'alors la dose injectée était évaluée de façon différente selon les auteurs et le plus souvent de manière empirique.

I - LES TRAVAUX DE POLLACK (31-32)

En 1971, Pollack a donc entrepris de déterminer la dose de gamma-globulines nécéssaire pour neutraliser un volume globulaire précis. Comme hypothèse de départ, il rechercha le volume globulaire neutralisable par une dose de gamma-globulines connue (300 µg). Ayant défini ce rapport suffisant : une dose pour 15 ml d'hématies, soit 20 µg/ml de globules rouges, en procèdant par expérience sur des volontaires transfusés avec de faibles volumes de sang, il vérifia cette hypothèse par transfusion de 500 ml de sang à des volontaires non immunisés.

La dose de gamma-globulines a été injectée trente minutes après la transfusion et par voie intra-musculaire. Les résultats ont été satisfaisants puisqu'aucun des 22 sujets transfusés ne s'est immunisé, alors que parmi la série témoin non traitée, 81% des personnes présentèrent un anticorps anti-Rhésus. On retrouve ainsi ce pourcentage de 19% de sujets non immunisés en l'absence de traitement.

Ces travaux ont montré aussi que le titre des anticorps passifs dans le sérum des sujets traités par ces doses ne dépasse jamais 1/16. Le même résultat est obtenu chez le sujets témoin n'ayant reçu que la dose de gamma-globulines, sans injection de globules.

Chez les personnes traitées, les anticorps ne sont plus décelables dans le sérum trois mois après leur injection. Cependant chez certains ils peuvent persister pendant six mois.

Les globules rouges transfusés sont retrouvés pendant sept jours chez les 22 sujets, par Coombs direct, et pendant un mois pour 8 d'entre eux.

Les auteurs préconisent donc une dose de 20 µg/ml de globules rouges.

2 - LA LOI DU HASARD.

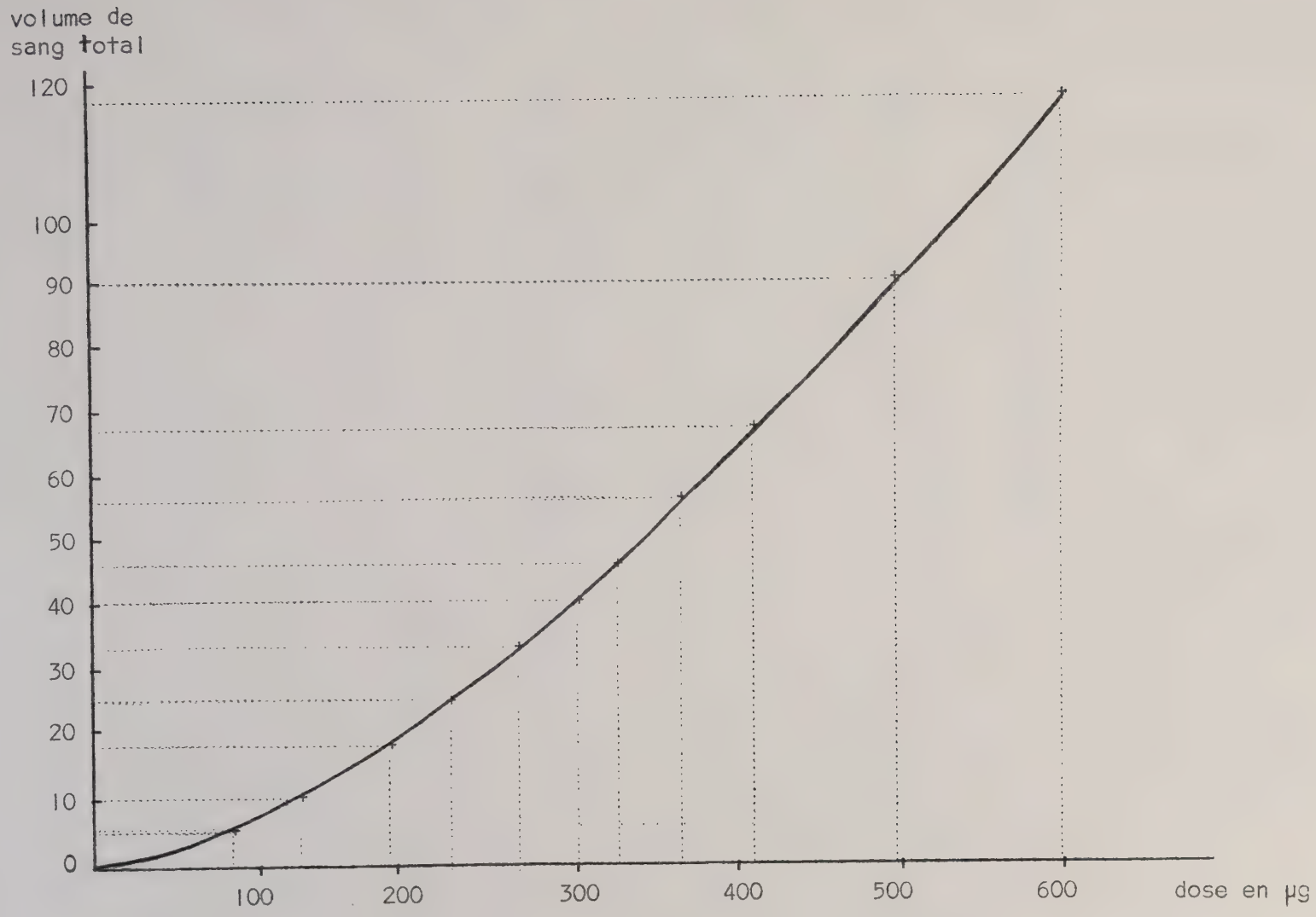
Il est difficile de définir une telle dose quel que soit le volume de la transfusion immunisante. CREGUT pense que la dose à injecter (fonction du volume globulaire puisqu'en microgrammes par millilitre de globules rouges) doit être variable selon ce volume et qu'on ne peut arrêter un rapport fixe. En effet, la dose en microgrammes par millilitre d'hématies doit être supérieure pour un faible volume à celle utilisée pour des transfusions plus importantes. Plus le nombre de globules rouges circulants est grand, plus il y a de chance de rencontre entre les hématies et les anticorps. Inversement, quand il y a peu de globules rouges en circulation, il faut un plus grand nombre de molécules d'anticorps.

3 - ESSAI DE DETERMINATION DE LA DOSE A INJECTER.

CREGUT a déterminé de façon théorique, pour une constante d'équilibre de K de $2 . 10^8$ et une constante d'hétérogénéité voisine de 0,5, pour une saturation d'environ 10% des sites antigèniques D, la relation qui existe entre la dose à injecter et le volume globulaire (communication personnelle). La courbe reproduite ici, a été tracée pour des hémorragies foeto-placentaires évaluées par la technique de Kleihauer. On peut extrapoler cette courbe pour des volumes plus importants, ceux réalisés par des transfusions accidentelles de femmes Rhésus négatif avec du sang Rhésus positif.

La relation obtenue, en considérant V comme le volume d'hématies transfusées en millilitre et D la dose de gamma-globulines en microgrammes, est la suivante :

$$D = 50 \sqrt{V} + 4 V$$



Relation entre la quantité de gamma-globulines en µg et le volume globulaire en ml

$D = 50 \sqrt{V} + 4 V$

Ce qui permet de proposer les quantités et doses suivantes pour différents volumes de globules rouges transfusés :

pour 50 ml d'hématies	=	550 µg	= 11 µg/ml
pour 100 ml d'hématies	=	900 µg	= 9 µg/ml
pour 150 ml d'hématies	=	1 200 µg	= 8 µg/ml
pour 200 ml d'hématies	=	1 500 µg	= 7,5 µg/ml
pour 400 ml d'hématies	=	2 600 µg	= 6,5 µg/ml

4 - STIMULATION DE L'IMMUNISATION.

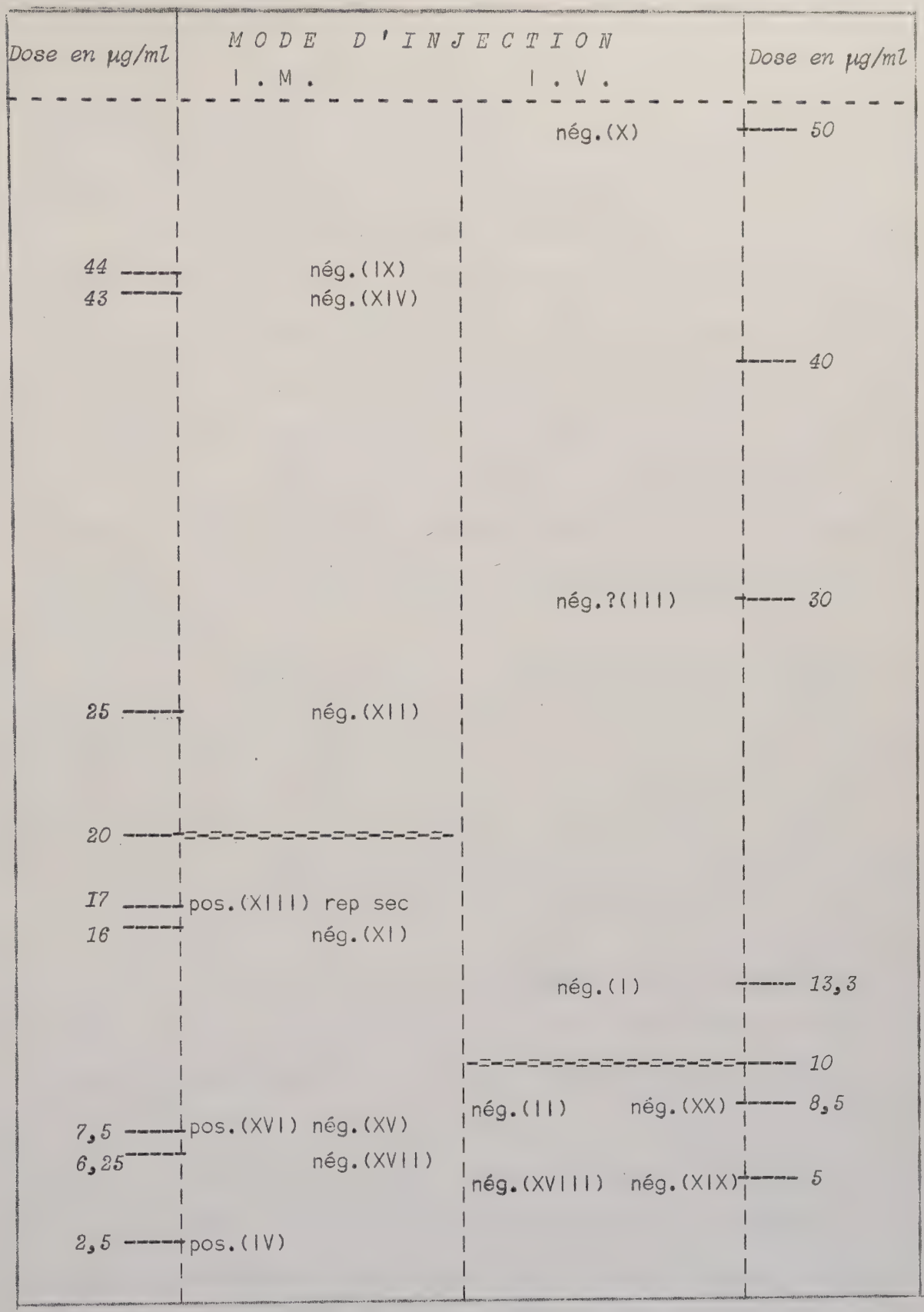
Des expériences entreprises par POLLACK en 1968, ont montré que des doses trop faibles d'anticorps injectées pour supprimer l'immunisation Rhésus, ont pour effet de faciliter le processus immunitaire plutôt que de l'enrayer. Il avait évalué à 10 µg/ml par voie intramusculaire cette dose stimulante. Mollison a évoqué cette possibilité à propos de l'observation n° IV où le sujet reçoit 2,5 µg/ml (18).

5 - TRANSFUSION D'UN VOLUME SANGUIN TRES IMPORTANT.

Aucun des cas rapportés n'a trait à des transfusions supérieures à deux flacons. Ils nécéssiteraient des injections de gammaglobulines de 9 600 µg par voie intra-musculaire, au minimum. Bowman et Mohn préconisent, avant tout traitement, une exsanguino-transfusion permettant d'éliminer un certain nombre de globules rouges Rhésus positif et rendant accessibles au traitement les hématies restantes (7).

Aucune espérience n'a été effectuée avec de tels volumes globulaires.

Répartition des doses utilisées par rapport aux doses proposées par POLLACK



Quatre cas ne figurent pas sur ce tableau ; ce sont ceux traités par plasma et chez lesquels il n'est pas possible de calculer la dose en µg/ml.

6 - EXAMEN DES OBSERVATIONS.

Reprenant les observations rapportées ici, il est difficile d'en tirer une confirmation de ces travaux puisque les traitements mis en route n'étaient pas guidés par une hypothèse commune au départ.

On peut cependant, rassembler en deux colonnes différentes, d'une part les sujets ayant été traités par voie intra-musculaire, d'autre part ceux ayant été traités par voie intra-veineuse. Dans ces deux colonnes, on repèrera par une ligne la dose prescrite par Pollack, soit 20 µg/ml en intra-musculaire (considèrons 10 µg/ml en intra-veineux).

Tous les sujets immunisés pour lesquels la dose est connue, se situent en dessous de cette ligne, donc ont reçu des doses inférieures à celles préconisées par Pollack à la suite de ses travaux expérimentaux.

Des conclusions seraient discutables en raison du faible nombre des cas rapportés.

DOSE A INJECTER ET ANTIGENICITE.

Il n'a pas été tenu compte, dans les observations rapportées, de l'antigènicité des globules rouges transfusés pour prescrire la dose de gamma-globulines à injecter. On sait, cependant, que le nombre de sites antigèniques est plus grand sur les globules rouges R2,R2 que les globules R1,R2 et R1,R1. La quantité de sites antigèniques n'est pas le seul mécanisme provoquant une augmentation de la stimulation antigènique. L'arrangement spatial des sites sur ces cellules influence aussi peut-être son antigènicité (Mollison 25).

DOSE A INJECTER ET VOIE D'INTRODUCTION.

Comme il a déjà été dit la dose à injecter est fonction de la voie d'introduction. La voie intra-veineuse permet des doses inférieures à celles de la voie intra-musculaire sans entraîner d'incident particulier. On peut noter, sur le tableau précédent, que les sujets traités par voie intra-veineuse ont reçu des doses nettement inférieures à celles proposées d'après Pollack et avec des résultats très favorables. (Jouvenceaux 19)

LES DELAIS ET LA SURVEILLANCE.

1- LES DELAIS.

On sait que l'injection de gamma-globulines lors de l'immunisation transplacentaire, doit, selon la loi, être effectuée dans les 72 heures après l'accouchement. On obtient de meilleurs résultats si le traitement est mis en route dans les premières 24 heures (Mollison 25).

Pour les immunisations post-transfusionnelles, on peut admettre les mêmes délais. Mais il semble qu'il soit préférable de traiter le plus tôt possoible après la transfusion. L'utilisation de gamma-globulines injectables par voie intra-veineuse, donc ayant une action rapide sur l'élimination globulaire, permet de traiter des femmes ayant dépasser ce délai de 72 heures (96 heures dans l'observation n° VII).

Dans les observations présentées, les délais de mise en route de la thérapeutique vont de 3 heures à 96 heures avec une moyenne inférieure à 24 heures.

2 - LA SURVEILLANCE.

Avant tout traitement, il faut s'assurer :

- du groupe de la malade, en particulier de l'absence de facteur D^u,
- du groupe du flacon en cause,
- de l'absence d'anticorps irréguliers anti-Rhésus chez la malade, par test de Coombs indirect et hématies traitées par enzymes, sur un échantillon de sang prélevé avant transfusion si possible.

Il est évident que ce traitement ne s'adresse qu'aux jeunes filles et femmes ayant encore la possibilité de procréer.

Au cours du traitement on surveillera :

- l'existence de la fixation des anticorps sur les globules rouges par réaction de Coombs direct. Tant que la réaction est positive, il existe encore des globules Rhésus positif dans la circulation. C'est ainsi qu'a été appréciée la disparition des globules rouges transfusés.

- la présence d'anticorps libres dans le sérum. Elle traduit l'existence d'un excès d'anticorps, détecté par la réaction de Coombs indirect et par hématies traitées par enzymes. Si aucun anticorps injecté n'est retrouvé, à aucun moment, dans le sérum, la dose calculée est certainement insuffisante pour empêcher l'immunisation.

Les échantillons de sang nécéssaires aux examens sont prélevés soit avant chaque injection, soit dans l'intervalle entre deux injections.

Le test de Kleihauer qui permet de mesurer le volume de l'hémorragie foetale et d'en surveiller l'évolution ne peut être utiliser dans ce cas.

3 - RYTHME DES INJECTIONS.

On avait penser qu'il n'était possible d'injecter en une seule fois que 250 µg par voie intra-veineuse, soit trois ampoules telles qu'elles sont conditionnées actuellement en France. De même le rythme des injections était d'une intra-veineuse toutes les six heures.

Il semble, actuellement qu'on peut injecter des doses beaucoup plus importantes lors de chaque intra-veineuse sans risquer d'incident. Ceux-ci apparaitraient pour des doses très supérieures à celles proposées ici. Il semble aussi qu'il est préférable d'injecter la dose totale le plus rapidement possible après la transfusion sans attendre un intervalle de six heures entre chaque injection.

Trois mois, six mois et un an après la transfusion, des prélèvements sont effectués pour s'assurer de l'absence d'anticorps immuns. L'absence d'anti-D détectable par les techniques habituelles ne traduit pas toujours la suppression de l'immunisation. Une diminution de la durée de vie d'une nouvelle injection de globules rouges Rhésus positif indiquerait l'existence préalable d'une réponse primaire. Il est évident que cette technique n'est jamais employée sauf expérience sur des volontaires.

L E S C O M P L I C A T I O N S .

- Les complications dues au plasma intra-veineux.

- Le risque de blocage rénal.

- les complications immunologiques.

LES COMPLICATIONS.

1- les complications dues à l'injection de plasma intra-veineux.

L'injection de plasma est généralement bien supportée et de pratique courante. Les incidents observés lors des transfusions de plasma contenant un anti-D semblent donc en rapport avec la réaction de l'anticorps et des globules rouges Rhésus positif.

CREGUT pense qu'il s'agit d'un problème de dose injectée et rappelle à ce propos un incident survenu lors de l'injection de 600 µg d'anti-D intra-veineux pour 80 ml d'hématies, ayant entraîner des frissons et une hyperthermie.

L'injection serait mal supportée lorsque la durée de demi-vie des globules rouges à éliminer, tombe en-dessous d'un seuil qui serait d'environ une heure, et pour des doses importantes de globules rouges. Il semble, à l'étude des doses utilisées dans les observations V, VII, VIII, X, qu'elles soient très importantes, en particulier : 1 400 ml de plasma, soit plus de la moitié du volume plasmatique, avec des anticorps titrant à 1/512 en Coombs indirect (le titre circulant devait être de 1/258) et 400 ml d'hématies (observation n° VII).

Le plasma intra-veineux étant désormais remplacé par les gamma-globulines, ces complications n'existent plus.

2 - Le risque de blocage rénal.

C'était la complication redoutée par les chercheurs et qui recula l'utilisation des gamma-globulines pour éliminer un volume

important de cellules Rhésus positif. Des anuries avaient été observées après transfusion de globules rouges Rhésus positif à des sujets porteurs d'anti-D. On pouvait penser que les anticorps provoquaient la destruction intra-tissulaire d'une grande quantité d'hématies et la libération de l'hémoglobine. On assistait ensuite au passage intra-vasculaire de l'hémoglobine en trop grande quantité (relargage). Dans les observations publiées, on n'a jamais retrouvé de cas de blocage rénal, les doses utilisées étant trop faibles pour provoquer cet accident.

3 - Les complications immunologiques.

Un cas a été publié après traitement préventif d'une immunisation post-transfusionnelle par Beard (3). Il s'agit de l'apparition d'un test de Coombs direct positif, six mois après le traitement, alors qu'il s'était négativé six jours après la transfusion. L'élution de l'anticorps fixé sur les globules rouges a montré un auto-anticorps chaud, non spécifique. Le test de Coombs direct est resté positif pendant trois mois mais il n'était plus possible d'éluer l'anticorps. La liaison entre cet épisode et le traitement n'a pas été démontrée.(observation n°XIII)

Une étude effectuée en Allemagne en 1972, à propos de 586 femmes Rhésus négatif ayant reçu des anticorps anti-D, a montré que 18 d'entre elles avaient présenté un anticorps anti-immunoglobulines (5).

RIVAT, RIVAT, PARENT (34) ont rapporté un cas d'accident survenu après injection de gamma-globulines anti-Rhésus et dû à la présence d'anticorps anti-IgA. Quarante heures après l'accouchement, l'injection intra-veineuse de 250 µg d'anti-D a provoqué une cyanose progressive qui s'est généralisée et une dyspnée. La recherche d'anticorps par hémagglutination passive a identifié un anticorps anti-IgA.

La fréquence d'anti-IgA est de 15 à 20% immédiatement après l'accouchement. En fait, l'observation de réaction à l'injection des gamma-globulines semble exceptionnelle. D'après ROPARTZ " cette discordance peut s'expliquer par plusieurs facteurs :

- une spécificité étroite de l'anti-IgA,
- une faible teneur en IgA dans les lots de gamma-globulines,
- une injection très fréquemment intra-musculaire et non intra-veineuse, ce qui entraîne une symptomatologie vraisemblablement discrète n'attirant guère l'attention,
- le titre souvent très faible de ces anticorps,
- enfin, certains de ces anticorps pourraient ne pas fixer le complément et par suite ne produiraient pas de réactions, ce qui reste à démontrer."

L'utilisation depuis cette date, à très grande échelle, des injections intra-veineuses a montré que les réactions aux injections étaient exceptionnelles.

MECANISMES D'ACTION DES ANTICORPS.

- sur l'élimination des globules rouges,

- sur les processus immunologiques.

MECANISMES D'ACTION DES ANTICORPS.

Le premier phénomène évoqué fut l'action des anticorps sur l'élimination des globules rouges de la circulation sanguine. Mais ce n'est pas le seul procéssus en cause. Les mécanismes immunologiques soupçonnés sont mal connus.

De nombreux travaux expérimentaux ont démontré que les anticorps fixés sur les globules rouges accélèrent leur disparition de la circulation sanguine et leur fixation dans la rate. BORNER et DEICHER (4) ont étudié l'élimination de 1 ml de globules rouges Rhésus positif, compatibles dans le système A B O, marqués au Cr51, par 200 µg de gamma-globulines anti-D injectées par voie intra-veineuse, chez 9 sujets. Les globules rouges sont rapidement détectés dans la rate et leur temps de demi-vie est de 3 à 6 heures. Il n'y a pas de dépôt dans les autres organes (foie, moëlle). La disparition complète s'effectue en 12 à 28 heures. Les temps différents retrouvés pour chaque individu, les doses d'anticorps et de globules rouges étant identiques, sont attribués à des variations individuelles de l'activité du système réticulo-endothélial de la rate.

Ces phénomènes sont-ils identiques pour des volumes plus élevés de globules : en particulier la rate est-elle le seul organe retenant les hématies ayant fixé les anticorps ?

Mollison (28) a montré, en 1968, que la clearance des globules rouges Rhésus positif peut être accélérée après l'injection de quelques microgrammes d'anticorps anti-D, sans assurer une prévention de

l'immunisation. Il semble même que de faibles doses facilitent les phénomènes d'immunisation.

La vitesse d'élimination n'est donc pas le seul facteur intervenant deans la prévention. L'étude des sites antigèniques D du globule rouge (12 000 sites sur une cellule RI,r) a pu préciser qu'il n'est pas nécéssaire que tous les sites soient liés à un anticorps. Une prévention efficace a pu être obtenue alors que seuls 10% des sites étaient combinés à des anticorps (1 ml de globules rouges pour 75 µg d'anti-D intramusculaire). L'efficacité de la prévention ne dépend pas seulement des sites antigèniques saturés mais aussi de la quantité d'anticorps libres passifs dans le sérum.

Jouvenceaux (20) a fait la même remarque et suggère que : "l'action suppressive de l'anticorps (actif ou passif) semble se situer essentiellement, non au niveau de l'antigène érythrocytaire (puisque les doses efficaces sont très inférieures à celles que nécéssiterait la neutralisation complète sur l'hématie), mais au niveau de l'antigène transmis par le macrophage à la cellule lymphoïde, après destruction par ce macrophage de la plus grande partie des molécules antigèniques. Les immunoglobulines anti-D auraient donc une double tâche : celles qui revètent partiellement les hématies RH-positives accélèrent l'érythrophagie, celles qui restent libres coupent la route des lymphocytes aux antigènes transmis. L'immunosuppression exigerait qu'il persiste, après le contact antigènique et en dépit du catabolisme propre des immunoglobulines, assez d'anticorps libres au moment où tous les antigènes sont parvenus aux macrophages."

REMARQUES DU POINT DE VUE TRANSFUSIONNEL.

La transfusion de sang Rhésus positif à un sujet Rhésus négatif n'est pas "incompatible" puisqu'elle n'entraîne pas d'incident chez les sujets non immunisés par des grossesses ou des transfusions préalables et 20% des sujets ne s'immuniseront pas.

Cette transfusion n'est pas toujours accidentelle. Elle peut se produire en l'absence de sang Rhésus négatif immédiatement disponible. Cette transfusion permet alors de sauver la vie de la malade même au risque d'une immunisation.

Toutefois, il est possible d'essayer d'éviter cette immunisation, si la transfusion ne dépasse pas deux unités, en mettant en route dès que possible le traitement par les gamma-globulines anti-D. De même, lorsqu'il s'agit d'une transfusion accidentelle, il convient de ne pas cacher l'incident ni minimiser les doses transfusées. Il faut pouvoir établir une liaison rapide avec le Centre de Transfusion qui délivre les gamma-globulines et peut aider, éventuellement, dans la conduite et la surveillance du traitement.

C O N C L U S I O N S .

La prévention des immunisations post-transfusionnelles est une étape importante dans la prévention de la maladie hémolytique du nouveau-né.

Les difficultés techniques de la détermination du Rhésus expliquent qu'il n'existe pas en France de contrôle pré-transfusionnel obligatoire dans le système Rhésus.

Les vingt cas rapportés montrent que le traitement fait passer de 80 à 15% le pourcentage des femmes immunisées.

Les gamma-globulines permettent un traitement bien supporté, des doses connues et d'action comparable, éliminent le risque d'hépatite.

La voie intra-veineuse autorise des doses inférieures à celles utilisées par voie intra-musculaire, avec une accélération de l'élimination globulaire et augmentation de la concentration sanguine.

La dose à injecter est fonction, essentiellement, du

volume globulaire transfusé. Les travaux expérimentaux ont permis d'estimer une dose fixe de 20 µg/ml par voie intra-musculaire. Cette dose est cependant variable selon le volume et on propose cette relation :

$$D = 50 \sqrt{V} + 4V$$

Les délais d'injection sont imprécis. Le plus précoce est le mieux. La dose doit être injectée le plus rapidement possible en une ou plusieurs fois. On surveillera l'élimination des globules rouges par Coombs direct et l'existence d'anticorps libres dans le sérum.

Les complications sont rares : intolérance au plasma, qui n'est plus utilisé actuellement, le risque de blocage rénal inexistant avec les doses employées, l'existence d'anticorps anti-IgA ne paraissant pas entraîner de troubles graves.

Les mécanismes d'action supposés sont doubles : accélération de l'élimination des globules rouges de la circulation, blocage par les anticorps libres de la transmission des antigènes au système lymphoïde.

Il est nécéssaire de ne pas cacher ni sous-estimer, les erreurs de transfusion, afin de traiter les sujets de sexe féminin susceptibles de procréation ultérieure et éviter ainsi l'apparition d'une immunisation à l'antigène D.

Le Président de la Thèse :

Monsieur le Professeur J. JAHIER

Vu et permis d'imprimer

Dijon, le 26 Septembre 1974

Le Doyen,

Monsieur J. B. BOUHEY

B I B L I O G R A P H I E ,

1 - ASCARI W.Q. - Rh immune prophylaxis in volonteers given large volumes of Rh positive blood. Proc. tech. Workshop Detection of feto-maternal hemorrhage.
Am. J. Obstet. Gynec. IIO, 309-3IO. I97I

2 - ASCARI W.Q., O'CONNOR R.R., POLLACK W. - Massive feto-maternal haemorrhage : detection, quantitation and prophylactic maesures to insure Rh immuno suppression. Scientific Exhibit, Amer. Ass. Blood Banks, San Francisco. 1970

3 - BEARD M.E.J., PEMBERTON J., BLADGON J. and JENKINS W.J. - Rh immunization following incompatible blood transfusion and a possible long-term complication of anti-D immunoglobulin therapy.
Med. Genetics 8, 3I7. I97I

4 - BORNER P., DEICHER H., HOPPE H.H. and al. - Clearance of Rh-positive foetal erythrocytes from the blood of Rh-negative adults by intravenously applicable immunoglobulin G anti-D.
Vox Sang. I7, 362. I969

5 - BORNER P., DEICHER H., GHANI G. and al. - Prophylaxe der Rhesus-Sensibilisierung durch intravenôse Gabe von Immunoglobulin G anti-D.
Geburstsh. U. Frauenheilk. 3I, 9II. I97I

6 - BOWMAN H.S., MOHN J.F. and LAMBERT R.M. - Prevention of maternal Rh immunization after accidental transfusion of D(Rho)-positive blood.
Vox Sang. 22, 385-396. I972

7 - BOWMAN H.S., and CHOWN B. - Prevention of Rh immunization after massive Rh-positive transfusion.
Canad. Med. Assoc. J. 99, 385. I968

8 - CENTRE NATIONAL DE TRANSFUSION SANGUINE - Manuel d'hématologie. Paris 1970 tome II.

9 - COOK I.A - ~~Primary rhesus-immunization~~ of male volonteers.
Brit. J. Haemato. 20, 369. I97I

10 - DE VEBER L.L. - Treatment of mismatched transfusions in Rh-negative women with anti-D plasma.
Canad. Med. Ass. J. 99, 416-418. 1968

11 - DE WIT D.C., BORST-EILERS E. - Failure of anti-D immunoglobulin injection to protect against Rhesus immunization after massive foeto-maternal haemorrhage.
Brit. Med. J. i, 152-154. 1968

12 - EKLUND J., NEVANLINNA H.R. - Immunosuppression therapy in RH incompatible transfusion.
Brit. Med. J. iii, 623-624. 1971

13 - FREDA V.J., GORMAN J.G., POLLACK W. - Succesful prevention of experimental Rh sensitization in man with an anti-RH gamma 2-globulin antibody preparation : a preliminary report.
Transfusion Philad. 4, 26. 1964

14 - GERMANN Patrick - Les immunisations post-transfusionnelles et leur incidences obstetricales.
thèse Montpellier n°120, 1970 dactylogr.

15 - GORMAN J.G. - Analysis of failures with Rh immune globulin.
Clin. Obste. Gynec. 14, 635-649. 1971

16 - HUCHET J., CREGUT R., PINON F. - Immunoglobulines anti-D : efficacité comparée des voies intra-musculaire et intra-veineuse.
Rev. franç. de Transf. 13, 231-241. 1970

17 - HUGHES-JONES N.C., GARDNER B. - The equilibrium constants of anti-D immunoglobulin preparations made from pool of donor plasma.
Immunology 18, 347. 1970

18 - HUGHES-JONES N.C., MOLLISON P.L. - Failure of relatively large dose of passively administred anti-Rh to suppress primary immunization by relatively large dose of Rh-positive red cells.
Brit. Med. J. i, 150-151. 1968

19 - HUMMEL K. - The mecanism of action of anti-D in the prophylaxis of Rh sensitization.
Ann. Immunol. hungar 16, 163-173. 1972

20 - JOUVENCEAUX A. - L'expérience de deux ans de prévention avec dose réduite intra-veineuse d'immunoglobuline anti-D et contrôle par anticorps passifs libres.
Obstetrica si ginecologia 21, 271-281. 1973

21 - JOUVENCEAUX A. - Prévention de l'immunisation anti-Rh.
Rev. franç. de Transf. 14, 39-52. 1971

22 - JOUVENCEAUX A., ADENOT N., BERTHOUX F. ... -Gamma-globuline anti-D lyophylisée intra-veineuse pour la prévention de l'immunisation anti-Rh.
Rev. franç. de Transf. 13 suppl 1, 341-347. 1969

23 - KEITH L., CUVA K.A., HOUSER and al. - Suppression of primary Rh immunization by anti-Rh.
Transfusion Philad. 10, 142. 1970

24 - MAYR W.R., MICKERTS D. - Gammaglobulinantikörper Bildung nach anti-D IgG Prophylaxe.
Z. immun. Forsch. Bd 143, 213-222. 1972

25 - MOLLISON P.L. - Blood transfusion in clinical medecine.(fifth edition)
Blackwell Scientific Publications, Oxford 1972

26 - MOLLISON P.L. - Further studies on the removal of incompatible red cells from the circulation.
Acta haemat. Basel fasc. 10, 1959c

27 - MOLLISON P.L., FRAME M., ROSS M. - Differences between Rh(D) negative subjects in reponse to Rh(D) antigen.
Brit. J. haemato. 19, 257. 1970

28 - MOLLISON P.L., HUGHES-JONES N.C. - Clearance of Rh positive cells by low concentration of Rh antibody.
Immunology 12, 63. 1967

29 - MOLLISON P.L., HUGHES-JONES N.C., LINDSAY M. and al. - Suppression of primary Rh immunization by passively administred antibody : Experiments in volonteers.
Vox Sang. 16, 421. 1969

30 - POLLACK W., ASCARI W.Q., KOSHESKI J. and al. - Studies on Rh prophylaxis. I - Relationship between doses of anti-Rh and size of antigenic stimulus.
Transfusion Philad. 11, 333. 1971a

31 - POLLACK W., ASCARI W.Q., CRISPEN J.F. - Studies on Rh prophylaxis. II - Rh immune prophylaxis after transfusion with Rh-positive blood.
Transfusion Philad. 11, 340. 1971b

32 - POLLACK W., GORMAN J.G., HAGER H.J. and al. - Antibody-mediated immune-suppression to the Rh factor : Animal models suggesting mechanism of action.
Transfusion Philad. 8, 134. 1968

33 - POLLACK W., KOSHESKI J. - The importance of antibody concentration binding constant and heterogeneity in suppression of immunity to Rh factor.
Int. Arch. Allerg. 38, 320. 1970

34 - RIVAT L., RIVAT C., PARENT P. et ROPARTZ C. - Accident survenu après injection de gamma-globulines anti-Rh dû à la présence d'anticorps anti-IgA.
Presse Med. 78, 2072. 1970

35 - RYDER R.J.W. and SCHARTZ R.S. - Immunosuppression by antibody : localization of site of action.
J. Immunol. 103, 970. 1969

36 - SCHNEIDER J. - Prophylaxe der Sensibilisierung durch anti-D : Applikation in Ergebnisse der Bluttransfusionforschung.
Bibl. haemato. Basel 32, 113. 1969

37 - WOODROW J.C., BOWLEY C.C., GILLIVER E. and al. - Prevention of RH immunization due to large volumes of Rh-positive blood.
Brit. Med. J. i, 148. 1968

38 - WOODROW J.C., FINN R., KREVANS J.R. - Rapid clearance of Rh positive blood during experimental Rh immunization.
Vox Sang. 17, 349-361. 1969